

有機性廃棄物の発酵状態予測型コンポスト化とその 酵素的促進に関する研究

著者	大野 正博
号	55
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	工博第4390号
URL	http://hdl.handle.net/10097/61433

氏 名 おおの まさ ひろ
 授 与 学 位 大 野 正 博
 学位授与年月日 博士(工学)
 学位授与の根拠法規 平成22年9月8日
 学位規則第4条第1項
 研究科、専攻の名称 学位規則第4条第1項
 学位論文題目 東北大学大学院工学研究科(博士課程) バイオ工学専攻
 有機性廃棄物の発酵状態予測型コンポスト化とその酵素的促進に関する研究
 指 導 教 員 東北大学教授 中山 亨
 論文審査委員 主査 東北大学教授 中山 亨 東北大学教授 西村 修
 東北大学教授 吉岡 敏明
 (環境科学研究科)

論文内容要旨

日本国内での食品残渣(生ごみ)の発生量は年間約 2,200 万トン(2005 年)であり、そのうち約 20% は肥料や飼料として再利用されているものの、残りの約 80% は再利用されことなくほとんどが焼却処分されている。中小規模の食品関連事業所から排出される食品残渣を事業所内に設置したコンポスト(堆肥)化装置で処理しコンポスト化するという取り組みが積極的に推進されているが、微生物の発酵分解能力を利用するバイオ方式コンポスト化装置では使用者が発酵状態を逐次監視する必要がある。さらに、既存のバイオ方式装置のほとんどは運転開始時にスターターとして種菌を必要とし、運転過程において微生物資材の補充や交換を必要とする。こうした作業は、使用者にとって大きな負担となっており、バイオ方式コンポスト化装置の普及を妨げる原因の一つとなっている。そこで本研究では、最終発酵産物を肥料として直接施肥可能でありエネルギー使用量が少ないバイオ方式のコンポスト化装置に着目し、発酵状態の良し悪しを的確に判断して食品残渣投入後の発酵状態の推移を予測する技術の確立および発酵分解微生物の集積手法の確立を目的として、発酵状態予測システムの構築を試みた。また、バイオ方式コンポスト化装置の課題であるコンポスト化に伴う悪臭の発生、難分解性有機質の分解促進といった技術的課題の解決に取り組み、食品残渣のコンポスト化のさらなる普及に資する技術を確立することを目指して研究を行った。

コンポスト化における発酵状態予測システムの構築を行うために、まず発酵状態を判定するために必要なパラメータを選択し、それらパラメータの解析条件を明らかにした。コンポスト化過程において、排気中 CO_2 濃度

表 1 発酵状態判定結果と報知内容の例。

パラメータ						判定	予測と報知		
排気中 CO ₂ 濃度	発酵物温度	発酵物温度 変化幅	発酵物温度 変化の方向性	発酵物重量 減少幅	食品残渣 投入量	発酵状態	予測	次回投入時期 (直前の投入から 必要な時間)	次回投入量
1.0～5.0 %	40℃未満	+20℃未満	上昇傾向	50 % 以上	20 kg 以上	発酵不良継続中 (回復期)	乾燥状態から正常発酵 状態に戻る	約 16 時間後	100 kg
	50 % 未満			正常発酵 (初期)		正常に発酵を維持	約 5 時間後	100 kg	
	40℃以上	+20℃以上	下降傾向	50 % 以上	20 kg 未満	発酵不良 (初期)	乾燥しすぎている すぐに生ごみか水の投入 が必要	即時	100 kg ー 直前の投入量
	40℃以上			20 kg 以上	正常発酵 (後期)	正常に発酵を維持	約 16 時間後	100 kg	
0.5～1.0 %	—	+20℃未満	上昇傾向	50 % 未満	20 kg 未満	発酵不良	水分過多で異常 発酵状 態が回復するまで生ごみの 投入を中止すべき	投入中止	
	—			50 % 未満	20 kg 未満	発酵不良継続中 (回復期)	水分過多で発酵不良であ るが徐々に回復する	約 40 時間後	50 kg
0.5 % 未満	—	—	—	—	—	発酵不良継続中	かなり乾燥してい るすぐに生ごみか水の投入 が必要	即時	100 kg ー 直前の投入量

は発酵物温度よりも数時間以上早く変化し、即時的に発酵状態をモニタリングするためのパラメータとして優れていた。また、排気中 CO_2 濃度を基軸として発酵物温度および発酵物重量に関するパラメータを解析することで、発酵状態を的確に把握して数時間後の発酵状態を予測し、食品残渣の投入時間と投入量を的確に指示することが可能なシステムを確立することができた。表 1 に発酵状態判定結果と報知内容のいくつかの例を示す。

大型コンポスト化装置を使用し、発酵不良の再現と回復に関する実験（図 1）を行い、このシステムの有効性を検証した。試験開始直後（ t_1 ）では正常な発酵状態だったが、食品残渣を過剰量投入し続けることにより試験開始 100 時間を経過した後（ t_2 ）、発酵物温度と排気中 CO_2 濃度が急激に低下し、徐々に発酵不良状態となった。 t_2 の時点で装置による報知は「投入中止」の指示であったが、

指示を無視してその後も 3 回にわたり強制的に食品残渣の投入を行ったところ、「発酵不良」の判定状態が継続された。投入を止めてから約 30 時間経過後に CO_2 濃度が 1% を超えたため発酵不良回復期（ t_3 ）となり、その後の温度の上昇により発酵状態は正常発酵初期（ t_4 ）となった。 t_4 の時点で装置による報知は「約 5 時間後に規定量全量（100 kg）まで投入可能」という指示であり、指示に従い食品残渣を投入したところ、その後試験終了までの約 1000 時間安定してコンポスト化を進行させることができた。

この発酵状態予測システムの報知に従って食品残渣の投入をコントロールすることで、種菌や微生物資材を添加しなくてもコンポスト化に有用な微生物を集積し、安定した微生物叢を形成させることができることが示唆され、装置使用者の負担を大幅に軽減させることが期待できる。ただし、魚解体残渣のコンポスト化過程において、皮由来のコラーゲン高含有固形物が残存しやすいという課題が明らかになり、難分解性有機質であるコラーゲンに関して発酵分解を促進する必要があると考えられた。

コンポスト化装置に付属させる脱臭機として、低コストで大きな設備を必要としない微生物脱臭法に着目し、腐葉土を脱臭担体として用いた脱臭機構を採用した。コンポスト化において生成する臭気成分の中でもアンモニアは最も主要な臭気物質であるが、微生物脱臭法において関与している

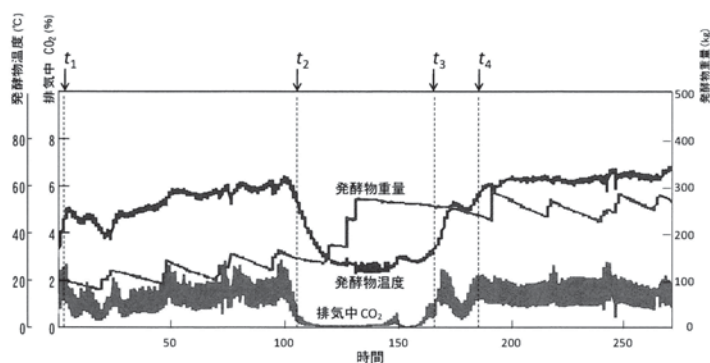


図 1 発酵状態の推移とパラメータの関係。

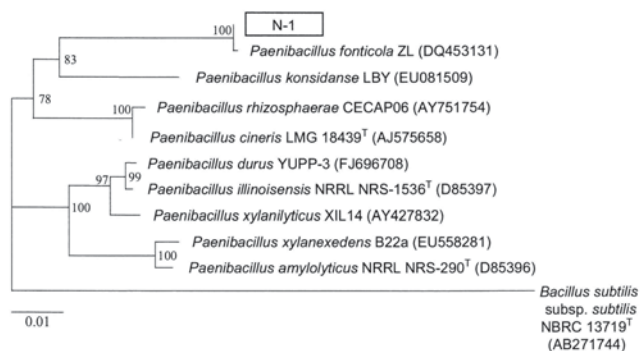


図 2 N-1 株の系統解析。

微生物とその悪臭物質分解機構に関する報告は少ない。そこで、腐葉土によるアンモニア除去機構について解析するとともに、腐葉土中からアンモニア資化性微生物を分離しそのアンモニア資化能を調べた。その結果、アンモニアは腐葉土の液相に迅速に吸着され、その後腐葉土中の微生物が作用して亜硝酸および硝酸に変換されていることが示された。また、腐葉土から分離した *Paenibacillus* sp. N-1 株はアンモニア資化能をもつことが示され、コンポスト化装置の脱臭能力高機能化への利用が期待できる。*Paenibacillus* 属が脱臭機能を有することについて、初めての報告である (図 2)。

コンポスト化において残存しやすいコラーゲン高含有物の分解を促すことによるコンポスト化の酵素的促進に関する研究を行った。酸性領域での好熱性コラーゲン分解酵素生産菌については報告があるが、本研究では pH が中性域から弱アルカリ域であり、かつ 50 ° C 以上の高温条件を至適とするコラーゲン分解酵素の取得を目的とし、その生産菌を各種環境中から探索した。コラーゲン分解活性を指標としてスクリーニングを行ったところ、*Thermobifida* sp. 4-2-1 株 (図 3) および *Laceyella* sp. OM-1 株 (図 4) のコラーゲン分解酵素生産菌としての有用性が示された。*Thermobifida* 属がコラーゲン分解活性を有するという点について、初めての報告となる。

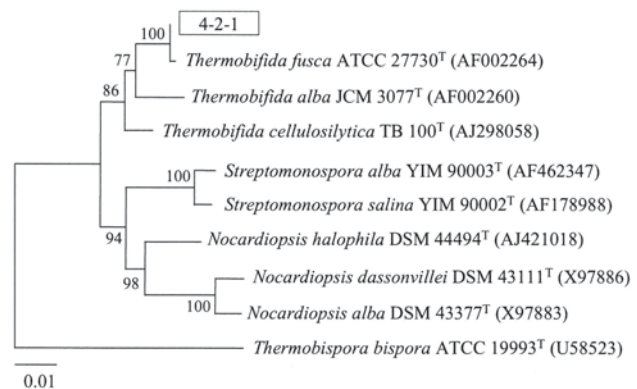


図 3 4-2-1 株の系統解析.

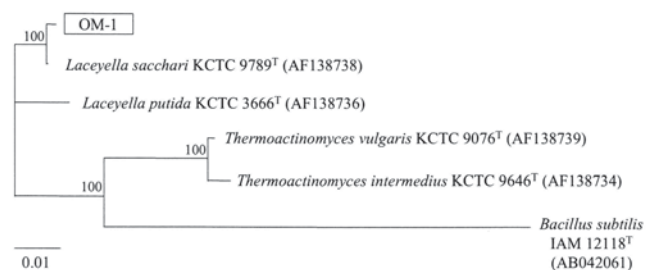


図 4 OM-1 株の系統解析.

コラーゲン分解活性の高さと反応至適条件、酵素を実用化した際に重要となる生産性や安定性を考慮し最終的に *Laceyella* sp. OM-1 株を選択をし、酵素の精製とキャラクタリゼーションを行った。OM-1 株が生産するコラーゲン分解酵素を単一精製し、諸性質を調べたところ、SDS-PAGE による推定分子量は約 30 kDa で、反応至適温度 70 ° C、至適 pH は 7 前後だった (図 5)。50 ° C 以上 1hr の加熱で失活しやすく、耐熱性維持に必須な因子が存在するものと推定された。この酵素タンパク質はアミノ酸の部分配列から *Thermoactinomyces vulgaris* 由来のプロテアーゼ thermitase と相同性が高かった。

魚解体残渣をコンポスト化する過程で *Laceyella* sp. OM-1 株が生産するコラーゲン分解酵素を含む粗酵素を添加したところ、コラーゲン高含有固形物の分解を促進することができた (図 6)。

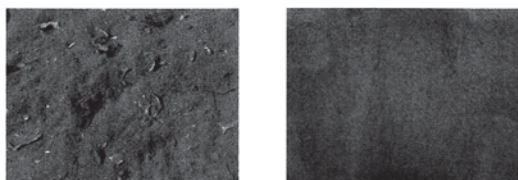


図 6 魚解体残渣のコンポスト化における OM-1 株粗酵素による分解促進。
左, 酵素無添加区; 右, OM-1 株粗酵素添加区

本研究において開発した発酵状態予測システムに加えて、新たに分離した微生物、さらには微生物により生産される酵素を利用し、効率的なコンポスト化システムの基盤を構築することができた。今後、本研究の成果は未利用バイオマス資源のリサイクル技術へ利用されることが期待される。

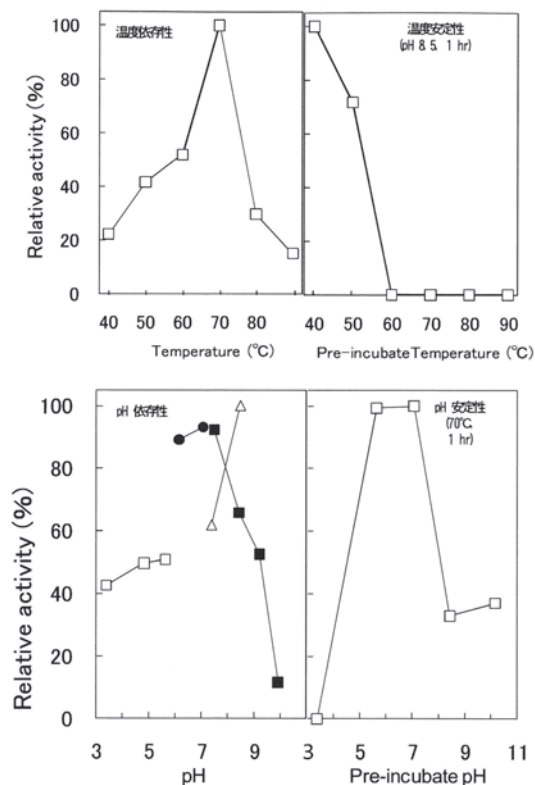


図 5 OM-1 株精製酵素の反応至適条件および反応安定性.

論文審査結果の要旨

本論文は、有機性廃棄物のコンポスト（堆肥）化のさらなる普及に資する技術の確立を目的として、バイオ方式のコンポスト化装置における発酵状態予測技術および発酵分解微生物の集積手法を確立するとともに、脱臭機構および脱臭関連微生物を解析し、さらに難分解性有機質の分解促進に関わる技術的課題の解決に取り組んだものである。本論文は「有機性廃棄物の発酵状態予測型コンポスト化とその酵素的促進に関する研究」と題し、以下の4章からなる。

第1章では、有機性廃棄物とそのコンポスト化に関係する技術を概観し、バイオ方式コンポスト化装置の有効性およびその装置の技術的課題について述べており、本論文の研究目的を明らかにしている。

第2章第1節では、食品残渣のコンポスト化における発酵状態予測システムの構築を行っている。このシステムの構築のため、発酵状態の判定に必要なパラメータを選択し、それらパラメータと発酵状態の関係を解析し、発酵状態判定条件および発酵状態予測条件を明らかにした。このシステムの報知に従って食品残渣の投入をコントロールすることで、コンポスト化に有用な微生物を集積して安定した微生物叢を形成させることが可能であることが示唆され、効率的なコンポスト化技術の普及に関して理論的基盤が与えられた。

第2節では、コンポスト化装置の脱臭機構を明らかにし、さらに脱臭能力高機能化に利用可能な微生物を分離同定して、その微生物の悪臭成分資化能力を評価している。脱臭機構の解明においては、脱臭担体である腐葉土が気相中のアンモニアの除去に関してどのように関与しているかを明確にし、化学的検証および微生物学的検証を行った。また、腐葉土から分離した *Paenibacillus* sp. N-1 株がもつアンモニア資化能を示し、コンポスト化装置の脱臭能力高機能化への利用を提案することで、コンポスト化技術の進歩に貢献可能なことを示した。

第3章では、コンポスト化において発酵分解しにくいコラーゲン高含有物の酵素的分解促進に関する研究を行った。

第1節では、コラーゲン高含有物の分解促進に寄与する微生物を取得すべく、環境中から好熱性コラーゲン分解酵素生産菌を探索し、*Thermobifida* sp. 4-2-1 株および *Laceyella* sp. OM-1 株を分離同定し、分解酵素生産菌としての有用性を示すことで、難分解性有機質の分解促進に関する微生物資源提供の可能性を示した。

第2節では、OM-1 株が生産するコラーゲン分解酵素を単一精製して酵素のキャラクタリゼーションを行い、精製酵素がコンポスト化条件に適合していることを示した。さらに、この酵素のアミノ酸配列について解析し、*Thermoactinomyces vulgaris* 由来のプロテアーゼ thermitase と相溶性が高いことを明らかにし、微生物由来コラーゲン分解酵素に関する有用な知見を得た。

第3節では、OM-1 株が生産するコラーゲン分解酵素を含む粗酵素を用いて、コラーゲン高含有食品残渣である魚解体残渣のコンポスト化が促進可能であることを明らかにし、本酵素の酵素工学的有用性について示した。

第4章は本論文の総括である。

以上、本論文では新規な発酵状態予測システムを構築し、新たに悪臭成分資化微生物を分離することで、有機性廃棄物のコンポスト化技術に関する理論的基盤を与えた。さらには、難分解性有機質分解微生物およびその生産酵素について生化学的な新しい知見を得るとともに、効率的なコンポスト化に関わる重要な技術基盤を与え、よって未利用バイオマス資源のリサイクル技術に関する有用な指針を提供することができた。

よって、本論文は博士(工学)の学位論文として合格と認める。